

# 苗期盐穗木在不同盐浓度处理下的渗透调 和抗氧化系统<sup>①</sup>

冯肖莉, 樊寿德, 周莲洁, 张富春, 王 艳

(新疆大学新疆生物资源与基因工程重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830046)

**摘 要:** 拟通过对盐穗木 2 月龄幼苗和 6 月龄成苗在不同 NaCl 浓度(0、100、300 mmol · L<sup>-1</sup> 和 500 mmol · L<sup>-1</sup>) 处理 15 d 后的相对含水量、脂质过氧化物(MDA)、无机(Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> 和 Ca<sup>2+</sup>) 和有机渗透调节物质(脯氨酸和甜菜碱) 及抗氧化指标(SOD、CAT、APX、POD、AsA 和 GSH) 的检测, 分析并比较盐穗木不同发育阶段应对不同盐浓度的渗透调节和抗氧化防御系统, 为盐穗木的研究与开发利用以及新疆生态环境的治理提供依据。结果表明: 500 mmol · L<sup>-1</sup> 高盐胁迫下, 盐穗木幼苗和成苗相对含水量与对照组相比均显著下降; 结合相对含水量和 MDA 含量显示, 100 mmol · L<sup>-1</sup> 和 300 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 均未对盐穗木造成胁迫; 渗透调节系统中, 无机离子 Na<sup>+</sup> 和有机物质甜菜碱(GB) 分别在盐穗木幼苗和成苗的渗透调节中发挥主导作用; 抗氧化系统中, 除盐穗木成苗在 500 mmol · L<sup>-1</sup> 处理下抗坏血酸(AsA) 含量升高外, 超氧化物歧化酶(SOD) 和 CAT 活性及谷胱甘肽(GSH) 含量随盐浓度的增加一直保持较高水平且变化很小; 相关系数分析显示 AsA 和 SOD 分别在盐穗木幼苗和成苗中发挥了重要的抗氧化作用。由此可见, 新疆牧草盐穗木在苗期的不同生长阶段采用不同的渗透调节和抗氧化策略应对盐渍生境。

**关键词:** 盐穗木; NaCl 处理; 渗透调节; 抗氧化系统; 耐盐机制

盐分过高往往会对植物的生长发育造成多方面的影响, 但同时植物也可通过复杂的生理生化调节应对盐胁迫。一方面, Na<sup>+</sup> 和 Cl<sup>-</sup> 大量进入细胞造成的离子毒害, 导致了细胞结构组分及功能的改变, 从而引发细胞周期紊乱、代谢受损和蛋白合成受阻, 甚至细胞的死亡<sup>[1-2]</sup> 等。同时, 过高盐分造成的渗透胁迫也会使植物根系吸水能力下降和叶片失水速率加快<sup>[3]</sup>。然而, 盐胁迫下植物可通过调节体内积累大量离子和可溶性物质<sup>[4-5]</sup> 调节细胞内水分含量, 以维持细胞渗透压平衡, 从而保护细胞结构, 减轻盐胁迫下的伤害。另一方面, 盐胁迫也会诱导细胞内活性氧 ROS 的产生, 如超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 和羟基自由基(OH<sup>·</sup>), 导致膜损伤、脂质过氧化和 DNA 修饰, 造成无法修复的代谢和结构功能紊乱。植物可通过复杂的酶类和非酶类抗氧化系统保护细胞免受活性氧的伤害<sup>[6]</sup>。抗坏血酸(AsA) 和谷胱甘肽(GSH) 是细胞内重要的非酶类抗氧化剂。AsA 能够清除多种有害形式的活性氧如

·OH、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 并通过抗坏血酸过氧化物酶分解过氧化氢 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 而还原型谷胱甘肽(GSH) 通过脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR) 参与抗坏血酸再生<sup>[7]</sup>。此外, 植物的耐盐性与酶类的抗氧化剂活性也密切相关, 如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸酶(APX) 和过氧化物酶(POD)<sup>[8-10]</sup>。

植物在长期的进化过程中形成了一定的生理机制以适应高盐生境<sup>[11]</sup>。不同种类的植物往往表现出不同的耐盐生理机制<sup>[12]</sup>, 即使同种植物在不同生长阶段的耐盐策略也存在很大差异<sup>[13-15]</sup>。盐穗木 [*Halostachys caspica* (Bieb.) C. A. Mey.] 生长于中亚盐碱荒漠区, 具有肉质同化枝的多年生灌木<sup>[16]</sup>, 具有独特的生态学、经济和药用价值, 可在盐分含量为 100 g · kg<sup>-1</sup> 的干旱区正常生长<sup>[17]</sup>。前期, Zeng 等<sup>[18]</sup> 对 45 d 龄盐穗木幼苗开展了盐胁迫下无机离子和有机物在渗透调节系统中的分布及检测, 发现无机离子较有机物在盐穗木幼苗渗透系统中发挥更

① 收稿日期: 2017-12-29; 修订日期: 2018-03-24

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题“两个 HAK/KUP/KT 成员的钾转运功能及耐盐性分析”(2017D04026); 国家青年自然科学基金项目(31400729) 资助

作者简介: 冯肖莉(1990-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物抗逆生理研究. E-mail: fengxl620@163.com

通讯作者: 王艳. E-mail: wangyanxu@126.com

重要的作用,且无机离子主要积累在生殖器官和同化枝内。然而,目前有关不同苗期生长阶段的盐穗木耐盐生理机制还不清楚,因此,本研究分别检测了处于盐穗木苗期的2月龄幼苗和6月龄成苗在盐胁迫下的渗透和抗氧化系统,通过对生理生化指标的比较和分析,以期明确盐穗木不同生长阶段在不同盐浓度作用下其渗透系统和抗氧化系统是否存在差异,为盐穗木在荒漠、盐碱地的研究与开发利用以及对新疆生态环境的治理提供参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料、生长条件及处理方法

**1.1.1 盐穗木的种植** 盐穗木种子采自新疆古尔班通古特沙漠。选取大小一致的盐穗木种子播种于土壤:珍珠岩:蛭石(V/V/V,2:1:1)基质的花盆中,置于温室(16 h光照/8 h黑暗,相对湿度28%~50%,温度25~32℃)中培养,7~10 d开始萌发,每周浇水1次。2个月后肉质同化枝长至3 cm左右,待6个月后同化枝长度可达8~9 cm,且具有不同程度的分支和木质化。

**1.1.2 不同盐浓度处理盐穗木** Zeng等<sup>[18]</sup>研究发现,低盐浓度(100 mmol·L<sup>-1</sup>和200 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl)对盐穗木的生长具有一定的促进作用,本文采用不同浓度NaCl(0、100、300、500 mmol·L<sup>-1</sup>)的自来水溶液,分别对2月龄幼苗和6月龄成苗的盐穗木植株进行灌根处理,每盆盐溶液约50 mL,每次浇至盐水沥出,隔天处理1次,处理15 d后取3~5棵苗期生长大小基本一致且处于相同节段同化枝进行各项生理指标的检测,以不含NaCl的自来水溶液为试验的对照。每组4个生物学重复。

### 1.2 含水量测定

盐处理15 d后,取盐穗木同化枝并称其鲜重(FW),先于105℃杀青2 h,再于70℃烘干至恒重,准确称取干重(DW),组织含水量(WC)=(FW-DW)/FW×100%。

### 1.3 自由脯氨酸含量测定

称取0.15 g盐穗木同化枝放入玻璃试管中,加入5 mL 3%磺基水杨酸,用保鲜膜封住管口,于沸水浴中加热10 min,取出试管,吸取上清0.2 mL转入离心管,加入0.2 mL冰乙酸和0.3 mL 2.5%酸性茚三酮沸水浴40 min,冷却至室温,加入甲苯0.5 mL,剧烈振荡,静置,吸取0.2 mL上清测其520 nm

下吸光(OD)值。

### 1.4 甜菜碱含量测定

称取0.15 g盐穗木同化枝,加入0.5 mL蒸馏水研磨,转入1.5 mL离心管中,再用0.7 mL蒸馏水冲洗研钵,10 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清0.3 mL加0.5 mL饱和雷氏盐,冰箱内保存1 h,取出于10 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,弃上清,分别加入99% (V/V) 乙醚洗液5 mL,混匀平衡后于10 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,弃上清,分别加入0.5 mL 70% (V/V) 丙酮,立即测定525 nm处的吸光值<sup>[19]</sup>。

### 1.5 离子含量测定

准确称取0.5 g干重后,加25 mL浓硝酸加热溶解。待冷却至室温后,用超纯水准确定容至15 mL待测。K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>含量采用全谱直读电感耦合等离子体发射光谱仪(Thermo Jarrell Ash公司,美国)进行测定。

### 1.6 活性氧(ROS)和丙二醛(MDA)含量测定

称取新鲜盐穗木同化枝0.2 g,加1.5 mL预冷丙酮,研磨,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,吸上清1 mL,加0.1 mL 5%硫酸钛和0.2 mL浓氨水,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,留沉淀,沉淀用丙酮洗3~5次,直至去除色素,后用5 mL 2 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶解后,在415 nm波长下测定H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的含量。

称取新鲜盐穗木同化枝0.2 g,于低温用50 mmol·L<sup>-1</sup> PBS(pH 7.8)研磨,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心20 min,取0.4 mL样品提取液,加入0.6 mL PBS(pH 7.8),1 mL 1 mmol·L<sup>-1</sup>盐酸羟胺,摇匀,于25℃中保温1 h,再加入1 mL 17 mmol·L<sup>-1</sup>对氨基苯磺酸(以冰醋酸:水=3:1配制)和1 mL 7 mmol·L<sup>-1</sup> α-萘胺,混合,于25℃保温20 min,测530 nm处的吸光值。

膜质过氧化损伤通过MDA含量进行测定。称取新鲜盐穗木同化枝0.2 g,于低温用1 mL 10%三氯乙酸(TCA)研磨,4 000 r·min<sup>-1</sup>离心20 min,取上清液0.3 mL,加入等体积0.6%硫代巴比妥酸(TBA)溶液,混合后沸水浴20 min,冰浴5 min,离心,取上清液测定600 nm和532 nm波长下的光吸收值。

### 1.7 抗氧化酶活性检测

取0.2 g新鲜盐穗木同化枝在冰上用提取缓冲液研磨,缓冲液组成为:50 mmol·L<sup>-1</sup> PBS(pH 7.8)、0.5 mmol·L<sup>-1</sup>乙二胺四乙酸(EDTA)、1%聚乙烯吡咯烷酮(PVP),然后在4℃条件下,

10 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min, 最终的上清用于 SOD、CAT、APX 和 POD 活性测定。

将 1.5 mL 50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸缓冲液、0.3 mL 130  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲硫氨酸 (Met) 溶液、0.3 mL 0.75  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  氮蓝四唑 (NBT) 溶液、0.3 mL 0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙二胺四乙酸二钠 ( $\text{EDTA-Na}_2$ ) 溶液、0.3 mL 0.02  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  核黄素、0.3 mL 酶液、0.3 mL 水混匀后, 给 1 支对照管罩上比试管稍长的双层黑色硬纸套遮光, 与其他各管同时置于 220  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  日光灯下反应 30 min, 反应温度控制在 25 ~ 35  $^{\circ}\text{C}$ , 反应结束后, 用黑布盖上试管, 终止反应。以遮光管为空白对照, 在 560 nm 波长下测定各管的吸光度。

在 3 mL 的反应体系中, 包括 0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  1 mL、 $\text{H}_2\text{O}$  1.9 mL, 最后加入 0.1 mL 酶液, 启动反应, 测定 240 nm 波长处的光吸收值降低速度, 将每分钟 OD 值减少 0.01 定义为 1 个活力单位。

在 3 mL 的反应体系中, 加入 0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  1 mL、0.2% 愈创木酚 0.95 mL、pH 7.0 PBS 1 mL, 最后加入 0.05 mL 酶液启动反应, 记录 470 nm 波长处 OD 值降低的速度。将每分钟 OD 增加 0.01 定义为 1 个活力单位。

在 3 mL 的反应体系中, 加入 50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.0)、0.5  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  AsA、0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{EDTA-Na}_2$ 、0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  和 0.1 mL 酶液, 启动反应, 测定 290 nm 波长处的光吸收值降低速度。将每分钟 OD 值减少 0.01 定义为 1 个活力单位。

### 1.8 抗氧化剂 AsA 和 GSH 含量的检测

取 0.2 g 新鲜同化枝, 用冰预冷的 1 mL 5% (W/V) TCA 研磨提取, 12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 取 0.2 mL 上清液, 分别加入 0.2 mL 150  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH 7.4), 0.2 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , 混匀。超过 30 s 后再分别加入 0.4 mL 10% TCA 溶液、0.4 mL 44%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 、4% 2, 2 - 二联吡啶 0.4 mL、0.2 mL 3%  $\text{FeCl}_3$ , 混匀后在 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴保温 60 min, 然后测 525 nm 处的 OD 值。

取 0.2 g 新鲜同化枝, 用冰预冷的 1 mL 5% (W/V) TCA 研磨提取, 12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 取 0.125 mL 上清液, 各加入 150  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.3 mL, DNTB 试剂 0.09 mL, 摇匀后, 于 30  $^{\circ}\text{C}$  保温反应 5 min, 测定 412 nm 的光吸收值。

### 1.9 数据分析

使用 GraphPad Prism 5.0 和 SPSS 19.0 软件对

数据进行统计分析。利用双因素线性模型 (GLM) 方差分析检测盐效应和不同生长发育时期下生理指标间的交互作用。单因素 GLM 方差分析测定了盐胁迫下无机和有机渗透物对渗透调节的贡献率。所有生理指标的结果以均值  $\pm$  标准差 (SD) 表示。同时, 计算并分析了活性氧、抗氧化酶活性、MDA 含量和盐浓度之间的相关系数。

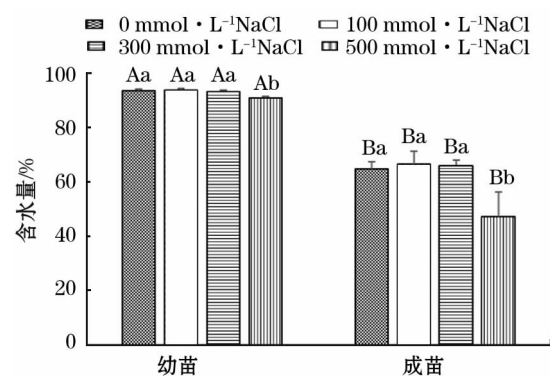
## 2 结果与分析

### 2.1 不同盐浓度处理对盐穗木相对含水量的影响

采用不同盐浓度对盐穗木幼苗和成苗进行处理, 测定植株的相对含水量。在 100  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 300  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐处理下, 盐穗木幼苗含水量稳定, 大约保持在 96% 左右。当盐浓度增加到 500  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 幼苗含水量显著下降 ( $P < 0.05$ )。尽管盐穗木成苗在不同盐浓度处理下含水量的变化趋势与幼苗类似, 但其在各个盐浓度下的含水量均显著低于幼苗阶段 ( $P < 0.05$ ), 且 500  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理时, 盐穗木成苗含水量与对照相比下降了 27% ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

### 2.2 不同盐浓度处理对渗透调节物质的影响

随着盐处理浓度的增加, 盐穗木幼苗和成苗中  $\text{Na}^+$  含量也逐渐增加, 而  $\text{K}^+$  含量一直保持稳定的高水平, 表明盐穗木具有维持盐胁迫下  $\text{K}^+$  平衡的能力。此外, 所有盐处理条件下, 成苗体内  $\text{K}^+$  含量远远高于幼苗, 而幼苗中  $\text{Na}^+$  则远高于成苗 ( $P < 0.05$ ), 因而成苗期盐穗木  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比显著高于幼苗期 ( $P < 0.05$ )。与此同时, 盐处理下盐穗木



注: 数值为 4 次平行实验的平均值  $\pm$  标准差, 不同小写字母代表组内差异, 不同大写字母代表组间差异 ( $P < 0.05$ )。下同。

图 1 盐胁迫 15 d 盐穗木同化枝含水量的测定

Fig. 1 Water content of assimilating branches of *H. caspica* under NaCl stress for 15 days



幼苗和成苗中  $\text{Ca}^{2+}$  含量均未发生显著变化,仅 500  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理下显著的增加了幼苗中  $\text{Ca}^{2+}$  的含量(图 2d)。

检测盐穗木在盐胁迫下有机渗透调物含量的变化。总体而言,幼苗中甘氨酸甜菜碱的含量显著低于成苗,且仅在 500  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理时含量约为对照的 2 倍( $P < 0.05$ );然而成苗中,100  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 300  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫下甜菜碱含量约为对照组含量的 6 倍,500  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理时,其含量下降至与对照组水平相同(图 3a)。尽管盐穗木幼苗和成苗脯氨酸含量较对照组相比分别在 500  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 300  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理下显著的增加了 4.5 倍和 5.5 倍(图 3b),但整体而言,脯氨酸

含量远远低于甜菜碱含量。

2.3 无机和有机渗透调物对盐穗木耐盐渗透调节的贡献率

利用单因素方差分析了不同 NaCl 浓度处理下幼苗和成苗中无机离子和有机渗透调物在渗透调节中的贡献率,发现幼苗和成苗之间存在一定的相似性和差异(表 1)。首先, $\text{Na}^{+}$  作为重要的无机离子,在盐穗木幼苗渗透调节中的平均贡献率达到 84.21%,在成苗中占到 39%。其次,甜菜碱作为有机渗透调物,在幼苗中的平均贡献率为 6.52%,而在成苗中比率增加至 41.67%,尤其在 100  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 300  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫条件下,平均贡献率约占总贡献率的 53.36%。无机离子  $\text{K}^{+}$  则在成苗中

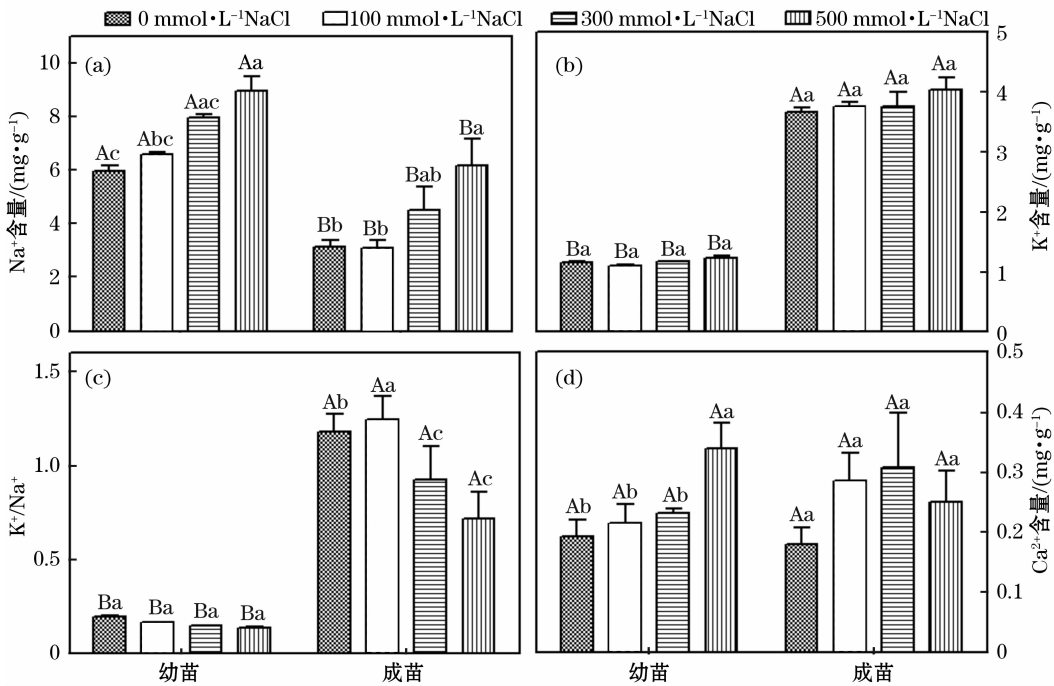


图 2 盐穗木胁迫 15 d 后  $\text{Na}^{+}$ 、 $\text{K}^{+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  含量和  $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$  比率的测定

Fig. 2  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$  and  $\text{Ca}^{2+}$  contents as well as  $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$  ratio in *H. caspica* plant under NaCl stress for 15 days

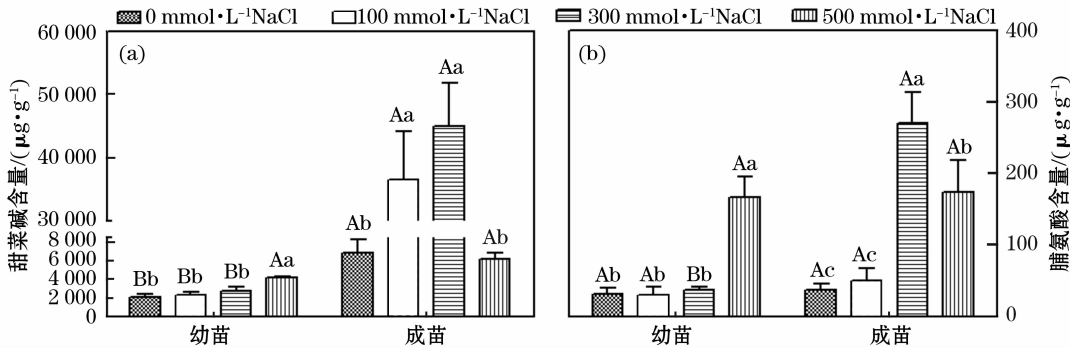


图 3 盐穗木胁迫 15 d 后甜菜碱和游离脯氨酸含量的测定

Fig. 3 GB and proline contents in *H. caspica* plant under NaCl stress for 15 days

表 1 盐胁迫下盐穗木无机离子和有机物质在渗透调节中的贡献率

Tab.1 Contribution rates of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment of *H. caspica* under NaCl stress

	NaCl 浓度 /(mmol·L <sup>-1</sup> )	有机渗透物/%		无机离子%		
		脯氨酸	甜菜碱	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
幼苗	0	0.110 ± 0.02b	5.89 ± 1.74a	82.9 ± 1.80a	9.54 ± 0.40a	1.56 ± 0.47a
	100	0.077 ± 0.05b	5.95 ± 1.36a	84.09 ± 1.46a	8.20 ± 0.15b	1.59 ± 0.47a
	300	0.088 ± 0.02b	5.64 ± 2.16a	85.41 ± 1.87ba	7.43 ± 0.23c	1.44 ± 0.10a
	500	0.32 ± 0.12a	7.97 ± 1.04a	83.13 ± 1.49a	6.78 ± 0.25c	1.81 ± 0.34a
成苗	0	0.11 ± 0.04b	19.41 ± 1.60b	46.75 ± 4.06b	32.17 ± 2.59a	1.56 ± 0.56a
	100	0.079 ± 0.05b	56.72 ± 7.19a	24.47 ± 5.45c	17.42 ± 1.51bc	1.31 ± 0.51a
	300	0.29 ± 0.05ab	56.00 ± 14.35a	28.89 ± 13.36bc	13.16 ± 0.72c	1.67 ± 0.32a
	500	0.39 ± 0.19a	12.29 ± 3.45b	63.86 ± 6.37a	22.04 ± 4.50b	1.42 ± 0.62a

注:所有指标含量均换算为 μmol·g<sup>-1</sup>,每个处理组所示的数据代表给定溶质的浓度与总溶质浓度之比的 4 次重复平均值。数值为 4 次平行实验的平均值 ± 标准差,不同小写字母代表组内差异(P < 0.05)。

(21.20%) 的平均贡献率要高于幼苗中的贡献比 (7.98%)。有趣的是,无论在盐穗木幼苗期还是成苗期,Ca<sup>2+</sup>和脯氨酸在所有盐胁迫下的渗透调节中所占比例都很小,平均贡献率分别为 0.18% 和 1.54%。上述结果显示,盐穗木幼苗和成苗主要通过无机离子 Na<sup>+</sup>和有机物甘氨酸甜菜碱来调节由盐引起的渗透胁迫。

2.4 盐分对抗氧化系统的影响

MDA 是脂质过氧化的主要终产物,是植物抵抗逆境的一个重要指标。图 4 显示了盐穗木幼苗和成苗在不同盐浓度胁迫下的 MDA 含量。幼苗中,随

着盐胁迫浓度的增加,MDA 含量逐渐下降,在 300 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫处理下,MDA 含量最低且与对照组相比具有显著性差异(P < 0.05,图 4a)。相比较而言,盐穗木成苗随盐浓度的增加,MDA 含量逐渐增加,在 500 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 处理下 MDA 含量达到最大且与对照组相比具有显著性差异(P < 0.05,图 4a)。盐穗木幼苗和成苗中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量在 100 mmol·L<sup>-1</sup>和 300 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 处理下均有一定程度的降低。幼苗中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量变化不大,一直维持较低水平,而盐穗木成苗在 500 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 处理下含量急剧升高,约为对照组含量的 5 倍

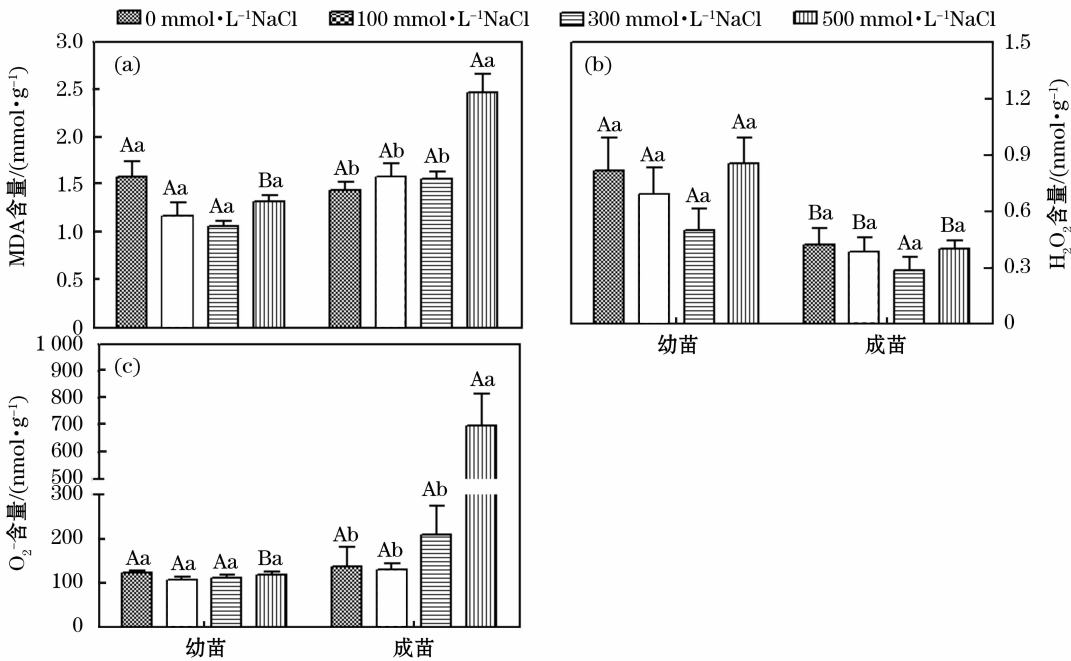


图 4 盐穗木胁迫 15 d 后 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量变化

Fig.4 Change of MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> contents in *H. caspica* plant under NaCl stress for 15 days

( $P < 0.05$ , 图 4)。

检测盐穗木体内抗氧化酶活性的变化结果显示:无论盐穗木幼苗还是成苗,与对照组相比,SOD和CAT的活性在各个盐浓度下均未发生改变(图5a和5b)。就整体而言,成苗SOD活性高于幼苗( $P < 0.05$ );而与之相反的是,幼苗中CAT活性要显著高于成苗( $P < 0.05$ );与之相似的是,幼苗中APX的活性显著高于成苗( $P < 0.05$ )且在盐胁迫下幼苗APX活性显著提高(图5c);就POD而言,盐穗木成苗在 $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl及幼苗在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl的胁迫下,其活性显著增强(图5d)。

结果显示,幼苗中AsA和GSH含量均显著低于成苗( $P < 0.05$ );盐分对幼苗期盐穗木AsA的含量

未产生显著影响,然而随着盐浓度的增加,显著的提高了成苗AsA含量,当胁迫浓度为 $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,成苗同化枝中的AsA含量约为对照组的2.5倍(图6a);在所有盐浓度处理下,无论盐穗木幼苗还是成苗GSH含量都很稳定,但成苗GSH的含量要显著高于幼苗(图6b)。

## 2.5 相关性分析

利用双因素线性模型方差分析,检测盐效应和不同生长发育时期下生理指标间的交互作用。由表2可知,除POD外,盐穗木幼苗和成苗间对应的抗氧化酶和抗氧化剂含量间存在显著的正相关。其中,幼苗SOD与成苗SOD的相关系数为0.753( $P < 0.05$ );幼苗APX与成苗APX相关系数为0.933( $P < 0.05$ );幼苗成苗间CAT相关系数为0.84;幼苗

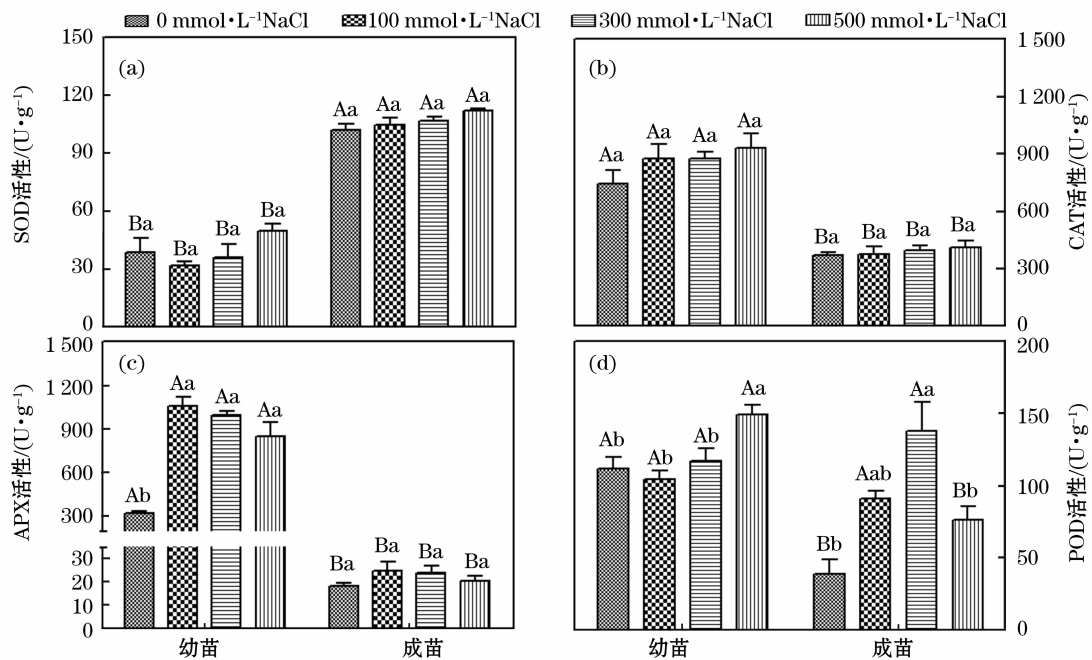


图 5 盐穗木胁迫 15 d 后 SOD、CAT、APX 和 POD 活性检测

Fig. 5 Activities of SOD, CAT, APX and POD of *H. caspica* plant under NaCl stress for 15 days

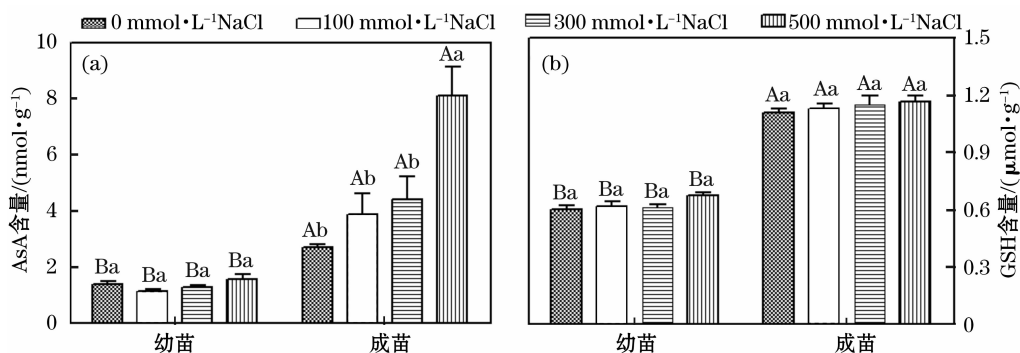


图 6 盐穗木胁迫 15 d 后 AsA 和 GSH 含量变化

Fig. 6 AsA and GSH contents of *H. caspica* plant under NaCl stress for 15 days

与成苗 GSH 的相关系数为 0.749 ( $P < 0.05$ , 表 2)。(  $P < 0.05$  )。

幼苗中,MDA 含量与 APX 活性呈显著正相关,相关系数为 0.944 ( $P < 0.05$  ),而与 CAT 活性呈负相关,相关系数为  $-0.682$  ( $P < 0.05$  );成苗中,MDA 含量不仅与 SOD 和 CAT 活性呈显著正相关 ( $P < 0.05$  ),而且与 AsA 和 GSH 含量也呈显著正相关

幼苗中,SOD 活性与 POD 活性、AsA 和 GSH 含量呈显著正相关,相关系数分别为 0.958、0.976 和 0.829 ( $P < 0.05$  );而在成苗中,SOD 活性与 AsA、CAT、GSH 和 MDA 含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$  )。幼苗中,AsA 含量与 SOD 和 POD 活性间呈显著正

表 2 盐穗木幼苗成苗抗氧化指标之间的皮尔森相关系数

Tab.2 Pearson correlation coefficients of MDA, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (APX), peroxidase (POD), catalase (CAT), AsA, and GSH content between seedlings and grown-up seedlings of *H. Caspica*

	幼苗							成苗						
	MDA	SOD	APX	POD	CAT	AsA	GSH	MDA	SOD	APX	POD	CAT	AsA	GSH
幼苗														
MDA		0.348	0.944 *	0.068	-0.68 *	0.469	-0.052	-0.013	-0.332	-0.947 *	-0.957 *	-0.412	-0.204	-0.614 *
SOD			-0.230	0.958 *	0.362	0.976 *	0.829 *	0.878 *	0.753 *	-0.564 *	-0.307	0.708 *	0.816 *	0.526 *
APX				0.044	0.818 *	-0.412	0.272	0.211	0.459	0.933 *	0.814 *	0.458	0.364	0.659 *
POD					0.604 *	0.890 *	0.912 *	0.95 *	0.908 *	-0.307	-0.047	0.876 *	0.939 *	0.746 *
CAT						0.174	0.764 *	0.73 *	0.881 *	0.557 *	0.568 *	0.84 *	0.833 *	0.927 *
AsA							0.685 *	0.752 *	0.618 *	-0.695 *	-0.374	0.605 *	0.682 *	0.395
GSH								0.995 *	0.930 *	-0.091	-0.048	0.815 *	0.972 *	0.749 *
成苗														
MDA									0.936 *	-0.156	-0.059	0.839 *	0.978 *	0.754 *
SOD										0.118	0.292	0.968 *	0.989 *	0.937 *
APX											0.842 *	0.151	0.006	0.386
POD												0.439	0.149	0.606 *
CAT													0.928 *	0.97 *
AsA														0.874 *
GSH														

注: \* 代表显著性差异,显著性水平为  $P < 0.05$ 。

表 3 抗氧化指标间相关系数加权

Tab.3 Weighted correlation coefficients among antioxidant indexes

	幼苗							成苗						
	MDA	SOD	APX	POD	CAT	AsA	GSH	MDA	SOD	APX	POD	CAT	AsA	GSH
幼苗														
MDA				3(8)		4(7)				2(9)	1(10)			5(6)
SOD					2(9)		1(10)	4(7)	3(8)	6(5)	8(3)	7(4)	5(6)	9(2)
APX	1(10)					3(8)					2(9)	4(7)		5(6)
POD		1(10)			9(2)	6(5)	4(7)	2(9)	5(6)			7(4)	3(8)	8(3)
CAT	8(3)		5(6)				6(5)	7(4)	2(9)	10(1)	9(2)	3(8)	4(7)	1(10)
AsA		1(10)		2(9)			5(6)	3(8)	7(4)	4(7)		8(3)	6(5)	
GSH		5(6)		4(7)	7(4)	9(2)		1(10)	3(8)			6(5)	2(9)	8(3)
成苗														
MDA				3(8)	2(9)		7(3)		4(7)			5(6)	1(10)	6(5)
SOD	5(6)	7(4)	9(2)		8(3)	6(5)	10(1)	4(7)				2(9)	1(10)	3(8)
APX			1(10)	3(8)			4(7)				2(9)			
POD	1(10)	3(8)			4(7)	2(9)	6(5)			5(6)				7(4)
CAT	9(2)	5(6)	10(1)		6(5)	8(3)	4(7)	7(4)	2(9)				3(8)	1(10)
AsA	5(6)	8(3)	6(5)		9(2)	7(4)		2(9)	1(10)			3(8)		4(7)
GSH	1(10)	5(6)			7(4)	2(9)	9(2)	8(3)	4(7)			3(8)	6(5)	
总计	47	53	40	42	47	47	50	62	65	35	28	55	68	64

注:根据各个指标之间的相关系数大小排序,按照其对盐胁迫的重要性进行加权,规则如下:1 = 10 分, 2 = 9 分等;斜体代表负相关。



相关;成苗中,AsA 含量与 SOD 和 CAT 活性间呈显著正相关( $P < 0.05$ )。

对表 3 中每行 14 个指标间相关系数的绝对值按照大小顺序进行排序,再进行加权,用以衡量各项指标在盐穗木耐盐机制中的重要性大小。根据每一列加权数总和,其结果如下,幼苗中:  $SOD > GSH > AsA = CAT > POD > APX$ ; 成苗中  $AsA > SOD > GSH > CAT > APX > POD$ 。由此可以推断,SOD 和 AsA 分别在盐穗木幼苗和成苗阶段的抗氧化系统中发挥着重要作用。

### 3 讨论

维持体内水分平衡一直被认为是植物应对高盐环境的重要手段之一<sup>[20]</sup>。实验结果表明,在不同 NaCl 浓度处理下,盐穗木幼苗较成苗具有更高的含水量。与对照组相比,盐穗木幼苗和成苗在  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理下含水量都略有增加且保持较高水平(图 1);当盐浓度达到  $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,盐穗木幼苗含水量与对照组相比稍有下降,但成苗含水量下降了约 27%,表明高盐胁迫下盐穗木成苗的渗透平衡遭到了严重破坏。以上结果提示,盐穗木在低盐生境下具有一套有效的渗透调节系统,其中  $100 \sim 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 可能是盐穗木生长的适宜浓度,这一结果与 Zeng 等<sup>[18]</sup>报道的相一致。

大多数盐生植物肉质化表型与离子含量间存在一定的相关性,使得植物能够通过降低水势而减轻盐胁迫下的离子毒害<sup>[21]</sup>。在盐穗木幼苗和成苗生长阶段,NaCl 处理均提高了植物体内  $\text{Na}^+$  含量,且盐穗木幼苗较成苗积累了更多  $\text{Na}^+$ (图 2a)。同时发现,无论是盐穗木幼苗还是成苗, $\text{Na}^+$  作为主要的无机渗透物以保证较低的水势(图 1,表 1),其中在幼苗中, $\text{Na}^+$  占渗透物贡献比率的 84.21%,在成苗中占 39.07%。以上结果提示,盐穗木和其他肉质真盐生植物如盐节木和盐爪爪<sup>[22-23]</sup>类似,它们在盐胁迫下能够积累大量无机离子  $\text{Na}^+$ ,并将其隔离到液泡中作为主要的渗透调节物质,提高细胞的渗透压,吸取更多水分来应对高盐胁迫。因而,肉质真盐生植物在盐胁迫下积累的大量  $\text{Na}^+$  可能是其进行渗透调节的一个基本策略。大量的研究显示,盐渍生境下植物会积累过多的  $\text{Na}^+$  而减少其他矿物质营养离子的吸收,如  $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$ <sup>[19,24-25]</sup>,进而对植物造

成离子毒害。然而,不同物种间响应离子毒害的策略不尽相同<sup>[26]</sup>。其中, $\text{K}^+$  是植物必需的元素之一,同时又是一种有效的渗透调节物,在胞质中的平衡对细胞代谢及正常功能的发挥均起着重要作用<sup>[27]</sup>。前人研究发现<sup>[28]</sup>,由于  $\text{Na}^+$  与  $\text{K}^+$  间存在竞争拮抗关系,因而盐胁迫下植物体内的  $\text{K}^+$  含量急剧下降,但盐生植物在盐渍生境下往往具有较好的保持高水平  $\text{K}^+$  的能力。本实验中,随着盐处理浓度的增加,尽管盐穗木幼苗和成苗中  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  比率逐渐降低,但它们仍然保持着较高的  $\text{K}^+$  含量(图 2c),表明盐穗木具有较强的  $\text{K}^+$  吸收和储存能力,推测盐穗木在盐胁迫下对  $\text{K}^+$  的高亲和吸收及选择是其维持盐胁迫下存活的重要途径。从图 2b 可以看出,盐穗木成苗较幼苗积累了更多的  $\text{K}^+$ (表 1),表明  $\text{K}^+$  在盐穗木成苗抵御盐胁迫时发挥了重要功能。 $\text{Ca}^{2+}$  同样也能够调节和减轻盐胁迫对植物生长带来的不利影响<sup>[29]</sup>。盐胁迫下植物细胞高水平  $\text{Ca}^{2+}$  的积累往往作为植物耐盐的一个重要参数。本研究中,随着盐胁迫处理浓度的增加,盐穗木幼苗和成苗中  $\text{Ca}^{2+}$  含量略有升高,但基本保持不变(图 2d)。由于  $\text{Ca}^{2+}$  是细胞内第二信使,为保证细胞代谢反应的正常进行, $\text{Ca}^{2+}$  不能持续高水平存在<sup>[30]</sup>,这可能是长期盐胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  在盐穗木可溶性渗透调节物中所占较小比例的原因(表 1)。

盐渍生境下,植物被迫积累大量的矿物盐,为保证胞质内的正常代谢,往往将这些矿物离子隔离在液泡中,而胞质中有机物的积累可保持细胞内渗透压的平衡。本文中,游离脯氨酸和甘氨酸甜菜碱的含量随着盐浓度的增加而升高,暗示其在盐穗木的渗透调节中发挥着重要作用。尽管游离脯氨酸含量分别在  $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理的盐穗木幼苗及  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫下的成苗中显著增加(图 3b),然而,游离脯氨酸对渗透调节的贡献率非常小,仅占可溶性渗透物的 0.01% ~ 0.4%(表 1),该结果与 Zeng 等<sup>[18]</sup>对盐穗木的报道一致。大量研究显示,苋科植物通常在盐胁迫下会积累甘氨酸甜菜碱作为主要的渗透物质,应对细胞内高钠环境。甜菜碱(GB)作为一种无毒的细胞渗透调节物质,能够调节渗透压<sup>[31]</sup>并稳定蛋白质结构<sup>[32]</sup>,同时,也可保护光合系统免受盐胁迫损伤<sup>[33]</sup>及减少活性氧(ROS)的产生<sup>[34-35]</sup>。

本研究中,作为苋科的盐穗木在盐胁迫下也积累了大量甜菜碱,其在幼苗渗透调节系统中的贡献



率为 6.52%,而在成苗中达 41.67%(表 1)。因此,甜菜碱作为有机渗透物在盐穗木成苗的渗透调节中发挥了重要作用(表 1)。基于以上结果,盐穗木幼苗主要通过  $\text{Na}^+$  的积累,而成苗主要通过有机物甜菜碱的合成进行盐渍生境下的渗透调节。

植物在盐胁迫下积累大量活性氧,如超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )、过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )和羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )。活性氧(ROS)的过量产生会加剧对细胞膜的脂质过氧化,而丙二醛(MDA)常被认为是反映植物氧化损伤和敏感程度的一个指标<sup>[36]</sup>。本研究中,除了盐穗木成苗在高盐( $500\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ )胁迫下 MDA 含量显著增加(图 4a)外, $100\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $300\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 处理并未增加盐穗木幼苗和成苗中的 MDA 含量,甚至 $300\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 胁迫下的幼苗 MDA 含量还有所下降。事实上,保持逆境环境下低水平的脂质氧化损伤是抗性植物的一个重要特征<sup>[37]</sup>,以上结果再次提示, $100 \sim 300\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 可能是盐穗木生长的适宜浓度。

植物在漫长的进化过程中形成了一套有效而复杂的抗氧化系统,以减少 ROS 造成的损伤,包括抗氧化物还原性谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AsA)以及抗氧化酶 SOD、POD、CAT 和 APX<sup>[38-39]</sup>。SOD 是抗氧化系统的第一道防线,它能够降解  $\text{O}_2^{\cdot-}$  阻止次级胁迫的产生<sup>[40]</sup>,直接调节 ROS 的含量。然而,SOD 活性的产物  $\text{H}_2\text{O}_2$  仍然有毒,随后进一步由其他抗氧化剂如 CAT、APX 和 POD 将其转变为  $\text{H}_2\text{O}$ 。抗氧化剂 GSH 和 AsA 可以作为盐胁迫条件下 SOD 活性的补充,能够直接消除几种类型的 ROS,如超氧阴离子自由基和单线态氧<sup>[41]</sup>。笔者对抗氧化系统指标的检测结果显示,盐穗木幼苗在盐胁迫处理下,与对照组相比,其中 APX 和 POD 酶活性显著升高,然而 AsA 和 GSH 含量以及抗氧化酶 SOD 和 CAT 活性均未发生显著变化(图 5 和图 6)。盐穗木成苗中,GSH 含量和 SOD 及 CAT 活性也未受到盐胁迫的影响,然而在 $100\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $300\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 胁迫下,POD 活性和 $500\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 胁迫下 AsA 含量显著的高于对照组(图 5 和图 6)。同时,SOD 和 CAT 活性及 GSH 含量一直保持稳定的高水平,对盐分表现出不敏感的特性。

幼苗中,尽管 APX 活性随盐浓度增加而升高,并与 MDA 和  $\text{O}_2^{\cdot-}$  显著相关(表 2),但其在所检测的 6 个抗氧化系统指标中的相关系数排名(表 3)却是

最低的,暗示 APX 不是盐穗木幼苗清除 ROS 的关键酶。GSH 作为一种亲水性抗氧化剂,也可以将超氧阴离子自由基转化为  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。在盐穗木幼苗和成苗中,GSH 含量和 SOD、POD、CAT 活性及 AsA 含量呈正相关(表 2),表明高水平的 GSH 含量往往伴随着高水平的 SOD 和 CAT 活性。

盐穗木幼苗和成苗中,AsA 与 GSH 含量及 SOD 与 CAT 活性之间呈正相关(表 3),尽管它们对盐胁迫重要的生化指标排名顺序在盐穗木的两个发育时期基本一致,但两个发育时期这些指标反应的强度有所区别。相关性分析发现(表 3),其中抗坏血酸(AsA)是盐穗木幼苗抗氧化系统的关键酶,而超氧化物歧化酶(SOD)则在盐穗木成苗中发挥了重要的抗氧化作用。

## 4 结论

作为荒漠草场中典型的盐生植物,盐穗木具有抗干旱、耐盐碱、耐风蚀沙埋的特点,是防风固沙、绿化造林、保持水土的优良灌木,可广泛用于荒漠化防治、盐碱地改良以及沙漠公路的防护。本研究发现,盐穗木幼苗和成苗分别通过积累无机离子  $\text{Na}^+$  和有机渗透物甜菜碱的方式,以维持植物在高盐生境下的水势;抗氧化剂 AsA 和抗氧化酶 SOD 在盐穗木幼苗和成苗期分别发挥了重要的抗氧化作用,以上结果反映了盐穗木在苗期的不同生长阶段,通过不同的渗透调节和抗氧化策略应对盐渍生境,该研究对盐穗木在荒漠盐碱地上开发奠定了基础资料。

## 参考文献(References):

- [1] Ayala-Astorga G I, Alcaraz-Meléndez L. Salinity effects on protein content, lipid peroxidation, pigments, and proline in *Paulownia imperialis* (Siebold & Zuccarini) and *Paulownia fortunei* (Seemann & Hemsley) grown in vitro[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2010, 13(5): 13-14.
- [2] Mondal T K, Ganie S A. Identification and characterization of salt responsive miRNA-SSR markers in rice (*Oryza sativa*) [J]. Gene, 2014, 535(2): 204-209.
- [3] Rahnama A, James R A, Poustini K, et al. Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil[J]. Functional Plant Biology, 2010, 37(3): 255-263.
- [4] Tahir M A, Aziz T, Farooq M, et al. Silicon-induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt-stressed wheat genotypes[J]. Archives of Agronomy & Soil Science, 2012, 58(3): 247-256.
- [5] Saxena S C, Kaur H, Verma P, et al. Plant Acclimation to Environ-

- mental Stress[M]. Springer New York, 2013:197–232.
- [6] 迟越,冯紫洲,李平,等. 盐胁迫下逆向转运蛋白对植物耐盐性影响的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(3):1–2. [Chi Yue, Feng Zizhou, Li Ping, et al. Effects of reverse transporters on plant salt tolerance under salt stress[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2016, 44(3):1–2.]
- [7] Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions[J]. Plant Physiology, 2006, 141(2):391–396.
- [8] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons[J]. Annual Review of Plant Biology, 1999, 50(50):601–639.
- [9] Gupta K J, Stoimenova M, Kaiser W M. In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, in vitro and in situ[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(420):2 601–2 609.
- [10] 齐曼·尤努斯,李秀霞,李阳,等. 盐胁迫对大果沙枣膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 干旱区研究, 2005, 22(4):503–507. [Yunus Qiman, Li Xiuxia, Li Yang, et al. Effects of salt stress on membrane lipid peroxidation and protective enzymes in leaves of *Elaeagnus angustifolia* L. [J]. Arid Zone Research, 2005, 22(4):503–507.]
- [11] 李子芳,王玉国,孙守钧. 植物应对盐胁迫的生理机制[J]. 河北农业科学, 2008, 12(3):1–3. [Li Zifang, Wang Yuguo, Sun Shoujun. The physiological mechanism of plants responding to salt stress[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2008, 12(3):1–3.]
- [12] 王树凤,胡韵雪,孙海菁,等. 盐胁迫对2种栎树苗期生长和根系生长发育的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(4):1 021–1 029. [Wang Shufeng, Hu Yunxue, Sun Haijing, et al. Effects of salt stress on growth and root development of two oak seedlings[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(4):1 021–1 029.]
- [13] Nawaz K, Hussain K, Majeed A. Fatality of salt stress to plants: Morphological, physiological and biochemical aspects[J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 34(9):5 475–5 480.
- [14] Ullah S, Bano A. Physiological mechanism of salt tolerance in *Suaeda fruticosa*, collected from high saline fields of khyber pukhtoonkhwa, Pakistan[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2015, 46(10):1 212–1 228.
- [15] Ashraf M A, Shahbaz M. Growth stage-based modulation in antioxidant defense system and proline accumulation in two hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salinity tolerance[J]. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 2012, 207(5):388–397.
- [16] 刘斌心. 中国沙漠植物志(第一卷)[M]. 北京:科学出版社, 1985. [Liu Yingxin. Flora in Desertis Reipublicae Populorum Sinarum: Vol(1)[M]. Beijing: Science Press, 1985.]
- [17] Song J, Feng G, Zhang F S. Salinity and temperature effects on germination for three salt-resistant euhalophytes, *Halostachys caspica*, *Kalidium foliatum* and *Halocnemum strobilaceum*[J]. Plant and Soil, 2006, 279(1):201–207.
- [18] Zeng Y L, Li L, Yang R R, et al. Contribution and distribution of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to salt stress[J]. Scientific Reports (UK), 2015, 5:13 639.
- [19] Ulfat M, Athar H U R, Ashraf M, et al. Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.)[J]. Pakistan Journal of Botany, 2007, 39(5):1 593–1 608.
- [20] Ahmad P, Hakeem K U R, Kumar A. Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.)[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(11):2 694–2 703.
- [21] Waisel Y. The stimulating effect of NaCl on root growth of Rhodes grass (*Chloris gayana*) [J]. Physiologia Plantarum, 2006, 64(4):519–522.
- [22] Maimaiti A, Wanaga F I, Taniguchi T, et al. Inorganic and organic osmolytes accumulation in five halophytes growing in saline habitats around the aiding lake area in turpan basin, northwest China [J]. Arid Land Research & Management, 2016, 30(4):421–431.
- [23] Tipirdamaz R, Gagneul D, Duhazé C, et al. Clustering of halophytes from an inland salt marsh in turkey according to their ability to accumulate sodium and nitrogenous osmolytes[J]. Environmental & Experimental Botany, 2006, 57(1):139–153.
- [24] Ashraf M, Ali Q. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*brassica napus* L.) [J]. Environmental & Experimental Botany, 2008, 63(1):266–273.
- [25] 李玉梅,郭修武,姜云天. 牛叠肚幼苗对盐胁迫的离子响应[J]. 干旱区研究, 2016, 33(2):353–361. [Li Yumei, Guo Xi-wu, Jiang Yuntian. Response of ions in *Rubus crataegifolius* seedlings to salt stress[J]. Arid Zone Research, 2016, 33(2):353–361.]
- [26] Dogan S, Diken M E, Dogan M. Antioxidant, phenolic and protein contents of some medicinal plants[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2011, 4(23):2 566–2 573.
- [27] Tuteja D, Rafizadeh S, Timofeyev V, et al. Cardiac small conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  channel subunits form heteromultimers via the coiled-coil domains in the C termini of the channels[J]. Circulation Research, 2010, 107(7):851–859.
- [28] 刘斌,王吉,蒋静,等. 不同盐碱荒漠花花柴植株  $Na^{+}$ 、 $K^{+}$  离子分布规律研究[J]. 新疆农业科学, 2013, 50(9):1 632–1 641. [Liu Bin, Wang Ji, Jiang Jing, et al.  $Na^{+}$  and  $K^{+}$  ions distribution of *karelinia caspica* in different saline-alkaline deserts[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2013, 50(9):1 632–1 641.]
- [29] Sarwat M, Ahmad P, Nabi G, et al.  $Ca^{2+}$  signals: The versatile decoders of environmental cues[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2013, 33(1):97–109.
- [30] Bacha H, Ródenas R, López-Gómez E, et al. High  $Ca^{2+}$  reverts the repression of high-affinity  $K^{+}$  uptake produced by  $Na^{+}$  in *Solanum lycopersicum* L. (var. microtom) plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2015, 180:72–79.
- [31] Matysik J, Bhalu B, Mohanty P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants[J]. Current Science (India), 2002, 82(5):525–532.
- [32] Ben A C, Ben R B, Sensory S, et al. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2010, 58(7):4 216–4 222.
- [33] Mäkelä P, Kärkkäinen J, Somersalo S. Effect of glycinebetaine on

- chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activities in tomato grown under drought or salinity[J]. *Biologia Plantarum*, 2000, 43(3): 471–475.
- [34] Cha-Um S, Kirdmanee C. Effect of glycinebetaine on proline, water use, and photosynthetic efficiencies, and growth of rice seedlings under salt stress[J]. *Turkish Journal of Agriculture & Forestry*, 2010, 34(6): 517–527.
- [35] Ahmad R, Chan J L, Kwon S Y. Glycine betaine: A versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses[J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2013, 7(1): 49–57.
- [36] Wang M, Zhou Q. Effects of herbicide chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2006, 64(2): 190–197.
- [37] Wang Q, Wu C, Xie B, et al. Model analysing the antioxidant responses of leaves and roots of switchgrass to nacl-salinity stress [J]. *Plant Physiology Biochemistry*, 2012, 58(3): 288–296.
- [38] Ali S, Zeng F, Cai S, et al. The interaction of salinity and chromium in the influence of barley growth and oxidative stress[J]. *Plant Soil & Environment*, 2011, 57(4): 153–159.
- [39] Abbasi G H, Akhtar J, Anwar-ul-Haq M, et al. Exogenous potassium differentially mitigates salt stress in tolerant and sensitive maize hybrids[J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2014, 46(1): 135–146.
- [40] Ernst W, Doe K, Cook A, et al. Dispersion and toxicity to non-target crustaceans of azamethiphos and deltamethrin after sea lice treatments on farmed salmon, *salmo salar* [J]. *Aquaculture*, 2014, 425: 104–112.
- [41] Jin Y, Wang L, Chen G, et al. Exposure of mice to atrazine and its metabolite diaminochlorotriazine elicits oxidative stress and endocrine disruption[J]. *Environmental Toxicology & Pharmacology*, 2014, 37(2): 782–790.

## Osmotic and Antioxidant System in *Halostachys caspica* Seedlings under Salt Stress

FENG Xiao-li, FAN Shou-de, ZHOU Lian-jie, ZHANG Fu-chun, WANG Yan

(Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, Xinjiang, China)

**Abstract:** The objective of this research was to better understand the mechanism of osmoregulation and antioxidant response of *Halostachys caspica* seedlings growing under salt stress. The effects of NaCl-salinity treatments (0, 100, 300 and 500 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl for 15 days) on water content, lipid peroxidation (MDA), organic (proline and glycine betaine) and inorganic osmolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup>), and antioxidant defenses (SOD, CAT, APX, POD, AsA and GSH) in seedlings and grown-up seedlings of *H. caspica* were investigated. The research on the development and utilization of *H. caspica* and the improvement of ecological environment in Xinjiang was carried out. Water content in the seedlings and grown-up seedlings of *H. caspica* growing under high-salt (500 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl) stress was significantly decreased compared with those under control. The data of water content and MDA content revealed that asalt stress on *H. caspica* plants was not induced under the conditions of 100 mmol · L<sup>-1</sup> and 300 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl. Na<sup>+</sup> and GB played the dominant roles in osmoregulation of seedlings and grown-up seedlings. With increasing salt concentration, the activities of SOD and CAT as well as the content of GSH were maintained at a high level all along except AsA content of grown-up seedlings under 500 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl treatment was increased. The correlation coefficient analysis showed that AsA and SOD played an important role in antioxygenation of seedlings and grown-up seedlings of *H. caspica*. It could be seen that the osmotic adjustments and antioxidant strategies were different at different growth stages of *H. caspica* seedlings so as to adapt salt stress.

**Key words:** *Halostachys caspica*; NaCl treatment; osmolytes; antioxidants system; mechanism of salt tolerance